

# Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación

## Bacterial biodiversity present in soils contaminated with hydrocarbons to carry out bioremediation

Apolonia Rodríguez-Gonzales<sup>1</sup>, Sandra Giovana Zárate-Villarroel<sup>2</sup>,  
Agatha Bastida-Codina<sup>3</sup>

[Recibido: 26 de septiembre 2021, Aceptado: 25 de octubre 2021, Corregido: 8 de noviembre 2021, Publicado: 1 de enero 2022]

### Resumen

[**Introducción**]: La biorremediación es una tecnología que utiliza microorganismos (bacterias, hongos, algas) o enzimas, para biodegradar contaminantes del petróleo y derivados y como otros contaminantes que están presentes en suelo, aire o agua. En América Latina, existe un alto grado de contaminación de sus ecosistemas; por tanto, esta tecnología es viable económica y ambientalmente para degradar contaminantes. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos como asfaltenos y resinas son difíciles de degradar, así como los alifáticos y bifenilos policlorados. [**Objetivo**]: Se busca dar una visión general de las publicaciones recientes sobre investigaciones científicas realizadas y metodologías de biorremediación de suelos contaminados por petróleo y sus derivados. [**Metodología**]: Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura científica de los últimos años, relacionada con el tema propuesto en bases de datos bibliográficas: Medline, Current Contents, PubMed, Google scholar, SciFinder, Scopus y en revistas especializadas: Chemosphere, Microbiología Aplicada, Biodegradation & Biodeterior, Sociedad Americana de Microbiología, Microbiología Frontal, Sci Total Environ. Las palabras clave utilizadas fueron en español o inglés. [**Resultados**]: Los hidrocarburos poliaromáticos pueden ser biodegradados por diferentes bacterias que biodegradan solas o en consorcio, como el fenantreno (compuesto aromático) que fue biodegradado por 11 cepas bacterianas diferentes (*Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Alkaligenes*, *Actinobacteria*, *Burkholderia sp.*, *Rhizobium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Stenotrophomonas* y *Sinorhizobium*). En biorremediación, se considera importante las variables fisicoquímicas, como el pH, temperatura, oxígeno y la humedad, al ser factores que influyen en el éxito del tratamiento. [**Conclusiones**]: Se buscó aportar con esta revisión, soluciones viables a variados problemas de contaminación por hidrocarburos de los ecosistemas latinoamericanos.

**Palabras clave:** Contaminantes; ecosistemas; metabolismo; microorganismos; poliaromaticos.

- 1 Directora de la Carrera de Ingeniería Ambiental en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Sucre, Bolivia; [rodriguez.apolonia@usfx.bo](mailto:rodriguez.apolonia@usfx.bo); <https://orcid.org/0000-0001-9416-9787>
- 2 Investigador Afiliado a la Carrera de Ingeniería Química, Universidad Mayor Real y Pontificia San Francisco Xavier de Chuquisaca, Sucre, Bolivia; [zarate.sandra@usfx.bo](mailto:zarate.sandra@usfx.bo), Docente de la Universidad Privada Domingo Savio, Sucre, Bolivia, [su.sandra.zarate.v@upds.net.bo](mailto:su.sandra.zarate.v@upds.net.bo), <https://orcid.org/0000-0003-2501-388X>
- 3 Científica Titular del Instituto de Química Orgánica General, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, España; [agatha.bastida@csic.es](mailto:agatha.bastida@csic.es); <https://orcid.org/0000-0002-5141-9595>



## Abstract

[**Introduction**]: Bioremediation is a technology that uses microorganisms (bacteria, fungi, algae) or enzymes to biodegrade oil pollutants and derivatives and other pollutants that are present in soil, air, or water. In Latin America there is a high degree of pollution of its ecosystems, therefore, this technology is economically and environmentally viable to degrade these pollutants. Polycyclic aromatic hydrocarbons, such as asphaltenes and resins, are difficult to degrade, as well as polychlorinated aliphatics and biphenyls. [**Objective**]: It seeks to give an overview of recent publications on scientific research carried out regarding bioremediation methodologies for soils contaminated by oil and its derivatives. [**Methodology**]: An exhaustive search of the scientific literature of recent years was carried out, related to the proposed topic in bibliographic databases: Medline, Current Contents, PubMed, Google scholar, SciFinder, Scopus and in specialized journals: Chemosphere, Applied Microbiology, Biodegradation & Biodeterior, American Society for Microbiology, Frontal Microbiology, Sci Total Environ. The keywords used were in Spanish or English. [**Results**]: Polyaromatic hydrocarbons can be biodegraded by bacterial consortia, such as phenanthrene (aromatic compound) which was biodegraded by 11 different bacterial strains (Sphingobium, Sphingomonas, Acidovorax, Alkaligenes, Actinobacteria, Burkholderia sp., Rhizobium sp., Pseudomonas sp., Pseudomonas sp., Stenotrophomonas and Sinorhizobium). In bioremediation, physicochemical variables such as pH, temperature, oxygen, and humidity are considered important, as they are factors that influence the success of the treatment. [**Conclusions**]: With this bibliographic review, we seek to provide viable solutions to various hydrocarbon pollution problems in Latin American ecosystems.

**Keywords:** Metabolism; microorganisms; ecosystems; pollutants; polyaromatic

## 1. Introducción

La demanda de la sociedad mundial por el uso de petróleo y sus derivados tanto para ser usados en procesos industriales como a nivel de usuarios es cuantiosa. El poder usar estos recursos requiere que las empresas petroleras lleven a cabo actividades de exploración, explotación, refinación, industrialización, comercialización, distribución de gas por redes, transporte y almacenaje. Todo esto conlleva una alta contaminación de ecosistemas terrestres y acuáticos, debido al derrame de petróleo crudo y sus derivados. La mayor contaminación proviene del uso de este material tanto para vehículos como en la industria. Por otro lado, la mayoría de las emisiones producidas por estos compuestos puede representar riesgos irreversibles, como consecuencia de sus diferentes concentraciones depositadas en el agua o suelo. Además, por sus características de persistencia durante largos periodos de tiempo, así como por los cambios adversos producidos al entrar en contacto con la flora, fauna y con seres humanos, hace que el petróleo y sus derivados sean contaminantes altamente peligrosos.

La no degradación del petróleo y sus derivados se debe a que son compuestos muy hidrófobos (no polares), presentando una muy baja solubilidad en agua por lo que son nocivos para los organismos acuáticos y terrestres no permitiendo el crecimiento de plantas, debido a que los poros del suelo que contiene aire están saturados de estos contaminantes. Así, una herramienta muy útil para solucionar este problema es la biorremediación, la cual permite restaurar suelos o aguas contaminadas, siendo esta técnica una alternativa biotecnológica muy interesante. Dicha



técnica utiliza microorganismos con capacidad de biodegradar hidrocarburos como fuente de energía para su crecimiento y desarrollo (Rakowska, 2020).

Investigaciones realizadas por Naciones Unidas sobre el efecto de la industria del petróleo en América Latina indican que este carburante es la principal materia prima que se produce y se exporta en esa región y, como consecuencia de la explotación de este recurso, se tienen evidencias fácticas de la contaminación ambiental y se tienen algunos ejemplos, en la amazonia ecuatoriana, colombiana, boliviana, peruana, los ecosistemas han sido impactados por grandes volúmenes de contaminantes hidrocarburíferos, cuyo resultado son los pasivos ambientales que son fuente de contaminación, actualmente están presentes, pasivos ambientales petroleros en el parque nacional Aguragüe en Bolivia (Fritz, 2020; Guevara, 2017), otro a orillas del lago Titicaca, Perú (Fritz, 2020), el derrame de Exón Valdez y otros incidentes que se encuentran en la literatura publicada (Lugo, 2017). En todos estos países latinoamericanos, y particularmente en los de mayor desarrollo, se presta cada vez mayor atención a los problemas de contaminación y su mitigación para la preservación del medio ambiente.

Una herramienta para solucionar este problema ambiental es el uso de microorganismos naturales para degradar o descomponer sustancias que son contaminantes y convertirlas en otras menos tóxicas o inocuas para el medio ambiente. Esta herramienta biotecnológica se llama biorremediación y es una tecnología emergente que utiliza organismos vivos (plantas, algas, hongos y bacterias) para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o atenuar su efecto en el suelo, el agua y el aire (Vandera & Koukkou, 2017). La técnica puede ser empleada para atacar contaminantes específicos del suelo, por ejemplo, en la degradación bacteriana de compuestos organoclorados o de hidrocarburos. Por otro lado, debido al incumplimiento de las Normas Sociales y Ambientales, impuestas por diferentes Gobiernos para el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales (petróleo, gas), a menudo se conduce a eventos de deforestación que destruyen el hábitat de especies de plantas y animales, produciendo pérdidas de biodiversidad nativa de flora y fauna, que comprende el sustento de muchas comunidades indígenas (Hernández-Valencia, 2017). Durante muchos años se han producido en países de América latina numerosos derrames de petróleo que contaminan el medio ambiente, degradando el ecosistema y la salud, tanto en animales como en humanos, siendo la biorremediación una alternativa biotecnológica para resolver este problema (Azubuike, 2016). Es necesario abordar la problemática no resuelta, si existen investigaciones realizadas, se deben emplear esos conocimientos como estrategia de solución; sin embargo, varios Gobiernos latinoamericanos no abordan el problema al no ejercer cohesión para el cumplimiento de las normas ambientales por parte de las empresas que trabajan en la explotación de los hidrocarburos, existe una dependencia financiera de los ingresos económicos, generados por la venta de estos recursos y terminan aceptando a veces los altos costos ambientales ocasionados (Moyna Mendoza *et al.*, 2020).

El petróleo crudo y sus derivados, compuestos por productos orgánicos de diferente composición y características químicas y físicas, es un combustible que puede estar en forma ligera,



volátiles y pesados, compuesta de una mezcla compleja de hidrocarburos, muchos de estos tienen una composición química aproximada, además de carbono e hidrogeno, presentan azufre y nitrógeno en las siguientes proporciones: 84-87 % carbono, 11-14 % hidrogeno, 0-2 % azufre y 0.2 % nitrógeno, clasificándose en: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), hidrocarburos saturados, asfaltenos y resinas (Viñas Canals, 2005). Estos compuestos son persistentes en el medio ambiente, debido a su compleja biodegradación, por lo que son potencialmente cancerígenos a causa de su alta bioacumulación en el organismo vivo (Sayed *et al.*, 2021).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son compuestos que se obtienen principalmente de la combustión incompleta de materia orgánica, como el carbón, petróleo o gasolina. Se le considera contaminantes prioritarios, debido a su peligro intrínseco, ya que presentan una toxicidad aguda al ser teratogénicos, mutagénicos, cancerígenos (Romero Izquierdo, 2013) y recalcitrantes. Esta propiedad conduce a su bioacumulación en el tejido adiposo de los seres vivos; además, son capaces de ocasionar deterioro del material genético (genotoxicidad). Son comunes del petróleo crudo y son persistentes, ya que están conformados por más de 100 variedades de compuestos, que tienen dos o más anillos aromáticos unidos entre sí. Las agencias internacionales de investigaciones sobre el cáncer han descrito hasta 60 HAP. Entre estos grupos se encuentran el benzo(a) pireno carcinogénico para los humanos, y los compuestos de ciclo-pental (a, d) pireno, dibenzo (a, h) antraceno y dibenzo (a, 1) pireno, los cuales fueron clasificados como probables carcinogénicos; mientras que el benz [j] aceantrileno, benz [a] antraceno (BaA), benzo [b] fluoranteno (BbF) y otros 12 compuestos de similares características químicas han sido clasificados como posibles carcinogénicos para humanos (**Cuadro 1**). La exposición durante corto o mediano plazo de este tipo de compuestos puede producir disfunción reproductiva y en las mujeres embarazadas pueden afectar al feto (Zhang *et al.*, 2021).

Los HAP normalmente se encuentran en fase gaseosa o en forma de partículas móviles (PM) en las capas de la atmosfera terrestre. Los que se encuentran en fase gaseosa son los compuestos de bajo peso molecular que pueden presentar dos o tres anillos de carbono, mientras que los que contienen cuatro anillos de carbono con un peso molecular medio se suelen encontrar tanto en fase gaseosa como en forma de PM, debido a las condiciones ambientales. Por otro lado, los compuestos con cinco o seis anillos de carbono, cuyo peso molecular es alto, se encuentran en su mayoría en forma de PM. El diámetro de estas partículas es diferenciado, siendo más pequeños aquellos que recién fueron emitidos desde una fuente identificable y, por tanto, se mantienen en la atmosfera por largos periodos de tiempo hasta que ocurra la coagulación de las partículas y se produzca la deposición húmeda o seca, gracias a su propia velocidad de sedimentación (Zhang *et al.*, 2021).

Los asfaltenos son compuestos sólidos y se obtienen a partir de materiales bituminosos o del petróleo crudo, utilizando disolventes de bajo peso molecular (n-pentano y el n-heptano) que son peligrosos para la salud y el medio ambiente, porque son químicamente estables, lo que implica que se encuentran en su estado de menor energía; por lo tanto, recalcitrantes, esta condición puede conducir a su bioacumulación en los seres vivos por deposición en el tejido adiposo.



Al encontrarse los hidrocarburos poliaromáticos en el aire, agua y suelos, estos rápidamente son absorbidos por las partículas del suelo, por ser este recurso natural un sumidero natural de estos contaminantes. Los compuestos volátiles se depositan en la atmósfera terrestre, en los cuerpos de agua y en las plantas, mediante la deposición seca y húmeda, llegando finalmente a la cadena alimenticia; dando lugar a problemas de salud. Se ha demostrado en trabajos de investigación científicos, que un porcentaje alto en humanos presenta un riesgo de sufrir cáncer por la ingestión de alimentos contaminados con HAPs y aproximadamente un 2 % es por la ruta de inhalación (Patel *et al.*, 2020). Así mismo, por exposiciones prolongadas a estos hidrocarburos (HAP), pueden aparecer tumores en piel, pulmón, colon, esófago, páncreas, mamas y la vejiga.

La fototoxicidad de los hidrocarburos poliaromáticos, se debe a que la luz solar tiene componentes en la luz visible y ultravioleta (UVA, UVB), donde los HAP pueden absorber la UVB y, como consecuencia, se forman especies reactivas. Estas son las causantes de los daños en la membrana celular, en las proteínas y en el ácido nucleico de las células, lo que implica que la oxidación del ADN es mayor en presencia de luz que en la oscuridad (Patel *et al.*, 2020).

Como una alternativa frente a la contaminación ambiental producida por los compuestos del petróleo, han sido desarrolladas diferentes tecnologías que incluyen tratamientos químicos, físicos y microbiológicos, para la restauración de áreas que han sufrido daños ambientales (Ławniczak, 2020). Los métodos físicos y químicos son los más caros y requieren intervenciones que incurren en altos gastos económicos. Sin embargo, la biorremediación microbiana es una alternativa beneficiosa para el medio ambiente y menos costosa económicamente (Patel *et al.*, 2020).

Las técnicas desarrolladas para llevar a cabo la biorremediación microbiana pueden ser: agregación de microorganismos con capacidad de eliminar los contaminantes presentes en el medio ambiente; adición de oxígeno o nutrientes al suelo contaminado para estimular la actividad microbiana nativa y así propiciar la biodegradación de los contaminantes; y la atenuación natural por los microorganismos nativos del suelo (bacterias, hongos y levaduras) que degradan los contaminantes (Abasolo Pacheco & Morante Carriel, 2019). De la literatura se desprende que el uso de las técnicas de biorremediación es más frecuente (33 %) frente a otras como el uso de biorreactores, o la fitorremediación/rizorremediación (22 %). Otros tratamientos menos comunes son: el compostaje con un 13 %, la de biopilas en un 4 % y las técnicas de biorremediación enzimática o de vermirremediación del 2 % (Patel *et al.*, 2020).

El objetivo de este artículo de revisión es dar una visión global de las publicaciones de investigaciones científicas realizadas a lo largo del tiempo, con respecto a metodologías de biorremediación de suelos contaminados por petróleo y sus derivados en países latinoamericanos, diferentes tipo de tratamiento, ventajas y desventajas, cómo afectan los contaminantes en los ecosistemas y a la salud de los seres vivos, porcentajes de efectividad del tratamiento, tipos de bacterias, sus enzimas, así como los genes involucrados, y la necesidad de buscar métodos de biorremediación para mejorar la calidad de los ecosistemas contaminados latinoamericanos.





## 2. Metodología

Para la presente revisión bibliográfica, se realizó la búsqueda exhaustiva de literatura científica relacionada con el tema propuesto en diferentes bases de datos bibliográficos como: Medline, Current Contents, PubMed, Google scholar, SciFinder, Scopus; así como en revistas especializadas del campo: Chemosphere, Applied Microbiology, Int Biodeterior Biodegradation, American Society for Microbiology, Front Microbiol y Sci Total Environ, además de Wikipedia. Para información más detallada, se consultaron libros del campo de investigación propuesto en este artículo tales como: *Hydrocarbon Bioremediation*, por Hinchee *et al.* (1991), *Microbial ecotoxicology* de Vandera y Koukkou (2017), *Microbial Ecotoxicology: Bacterial Community Response to Hydrocarbon Contamination in Soils and Marine Sediments: A Critical Review of Case Studies* por Watkinson y Morgan (1991), así como *Biochemistry of microbial degradation* de Ratledge (1994).

## 3. Resultados

### 3.1 Impactos de los hidrocarburos en el medio ambiente y la salud pública

Para comprender los impactos de los hidrocarburos en el medio ambiente y en la salud, es importante conocer algunas de las propiedades fisicoquímicas de aquellos compuestos considerados peligrosos en el (**Cuadro 1**) se muestran algunos ejemplos tomando en cuenta propiedades como: punto de ebullición (P.E.), de fusión (O.F), de congelación (P.C) y peso molecular (P.M.).

**Cuadro 1.** Resumen de propiedades fisicoquímicas de componentes de hidrocarburos, aromáticos, alcanos de cadena lineal y ramificada.

**Table 1.** Summary of physicochemical properties of components of hydrocarbons, aromatics, straight and branched chain alkanes.

Hidrocarburo	Formula Química	Características fisicoquímicas	Riesgos para la salud
Butano	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	P.E. -274.15 °C, P.F. -138 °C, P.C -80 °C, P.M. 58 g/mol	Cuando es inhalado, puede causar asfixia, y congelación en contacto con la piel.
Benceno	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	P.M. 78.11 g/mol P.F. 80.05 °C P.C. -11.15 °C	Cancerígeno, si se inhala del aire o de alimentos y bebidas contaminadas depositándose en el sistema gastrointestinal.
Fenol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	P.M.94.11 g/mol P.F. 181.85 °C P.C 79 °C	Irritación de las vías respiratorias.
Etil-benceno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	P.M.106.17 g/mol, P.F. 136.2 °C	Fácilmente absorbido por la piel y los pulmones.



Hidrocarburo	Formula Química	Características fisicoquímicas	Riesgos para la salud
Naftaleno	$C_{10}H_8$	P.M.128.17 g/mol, P.E. 218 °C P.C. 82.85 °C	Dolor de cabeza, náuseas, vómitos e irritación en la piel.
Fenantreno	$C_{14}H_{10}$	P.M.178.23 g/mol P.E. 336 °C P.C. 171 °C P.F. 97-100 °C	Dañino cuando se ingiere y toxico para la vida acuática
Antraceno	$C_{14}H_{10}$	P.M. 178.23 g/mol P.E. 216 °C B.P 340 °C	La inhalación causa tos, falta de respiración, dolor de garganta.
Pireno	$C_{16}H_{10}$	P.M. 202.26 g/mol P.E.145 -148°C P.F. 404 °C	Tóxico e irritante para los riñones y el hígado.
Fluoranteno	$C_{16}H_{10}$	P.M. 202.25 g/mol P.F. 111 °C P.E. 384 °C	Vía oral toxicidad aguda e irritación ocular.
Fluoreno	$C_{13}H_{10}$	P.M. 166 g/mol P.E. 298 °C F. 114 °C P.C. ≤ 21°C	Puede causar cáncer. Toxico para peces
Benzo-pireno	$C_{20}H_{12}$	P.M. 252.31 g/mol P.F. 179 °C P.E.495 °C	Cáncer de pulmón, vejiga, labio, boca, laringe, melanoma y sistema linfático.
Ace-nafteno	$C_{12}H_{10}$	P.M. 154.2 g/mol P. F. 95 °C P. E. 279 °C	Irritación en la piel
Ace-naftileno	$C_{12}H_8$	P.M. 152.19 g/mol P.E.-96.7 °C P.E. 40 °C Flash P. <0 °C	Cáncer, toxicidad aguda en contacto con la piel, irritación en la piel y los ojos.
Criseno	$C_{18}H_{12}$	P.M. 228.29 g/mol P.F. 254 °C P.E. 448 °C	Irrita la piel, ojos, garganta.

Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo (s.f.). Recuperado el 1 de noviembre de 2021, de: (<https://www.insst.es/documents/94886/162038/6.+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos.+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos+halogenados.+Hidrocarburos+poli+arom%C3%A1ticos++Isocianatos++Cetonas>).



#### 4. Características de compuestos presentes en el medio ambiente

**4.1 Alcanos:**  $C_1$ - $C_4$  a temperatura ambiente se encuentran en estado gaseoso,  $C_5$ - $C_{15}$  estado líquido y en estado sólido a partir de  $C_{16}$  (Arrieta *et al.* 2012; Heiss *et al.* (2005). Los alcanos lineales son más biodegradables y los ramificados menos biodegradables, los alcanos con de 5 a 10 carbonos a altas concentraciones inhiben su degradación. Este grupo de alcanos es la fracción más volátil del crudo y susceptible a pérdidas abióticas. La exposición prolongada, puede causar dermatitis o cáncer de piel (Coll Almela, 2021; Hu *et al.*, 2020).

**4.2 Hidrocarburos monoaromáticos:** son altamente insaturados junto con otros compuestos como alquenos, alquinos y derivados de benceno, que son insolubles en agua. Los compuestos de benceno alquilados (tolueno y xilenos) forman la familia BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) considerados muy tóxicos. El benceno en grandes cantidades en el ambiente ingresa al cuerpo por inhalación, o por consumo de alimentos o bebidas contaminadas, depositándose en el torrente sanguíneo con lo que se almacena en la médula ósea y los tejidos grasos (Hidalgo *et al.*, 2020).

**4.3 Hidrocarburos poliaromáticos (HAP):** los compuestos principales del petróleo crudo son di-aromáticos como el naftaleno y sus grupos alquilados; entre los poliaromáticos con 3 anillos tenemos al antraceno, fenantreno, fluoreno y sus derivados alquilados; el fluoranteno, criseno, pireno, y benzo(a)pireno pertenecen a hidrocarburos con más de tres anillos (Hidalgo *et al.*, 2020). El peligro intrínseco de los HAPs ha sido investigado por varias instituciones ambientales, debido a los riesgos de toxicidad aguda, mutagénica, teratogénica y carcinogénica. Estos tienen características de bioacumulación en organismos y su biodegradación es muy lenta, debido a su alto peso molecular y a la hidrofobicidad e insolubilidad en agua (Patel *et al.*, 2020; Feng *et al.*, 2021).

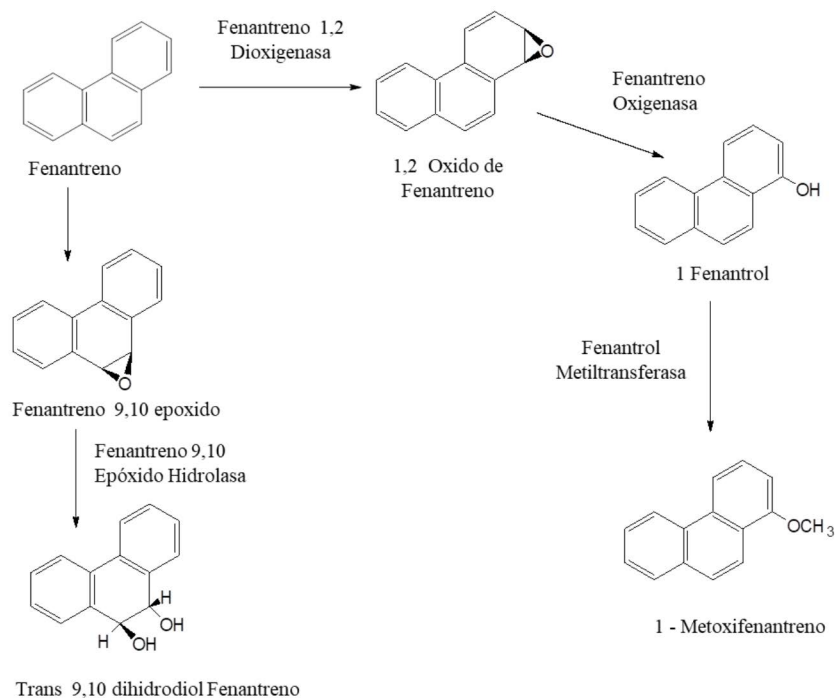
El naftaleno y fenantreno han sido ampliamente investigados utilizando procesos de biorremediación con numerosas cepas de bacterias aerobias mayormente, así mismo se han investigado las rutas metabólicas de biodegradación que se encuentran en los diversos artículos científicos publicados. Existen estrategias para degradar a los HAPs, de acuerdo con la metodología de la investigación a seguir; en la situación de que sea por el método aerobio, juega un rol muy importante el oxígeno, porque es aceptor de electrones, pero también sirve de co-sustrato para la escisión oxigenolítica e hidroxilación del anillo aromático. Mientras que la degradación anaerobia es completamente diferente porque utilizan aceptores de electrones para los iones sulfato o nitratos. En la biodegradación aeróbica se involucran las enzimas dioxigenasas que son enzimas reductasas y las proteínas ferredoxinas, que son proteínas hierro-azufre que intervienen en el transporte de electrones en reacciones del metabolismo. Estas proteínas presentan subunidades terminales que actúan como enzimas monooxigenasa o dioxigenasa siendo por lo general el primer paso la degradación bacteriana llamada hidroxilación (Ghosal *et al.*, 2016).





Para que se desarrollen los mecanismos de biodegradación aeróbica, se necesita de la presencia del oxígeno molecular, facilitando así que la dioxigenasa produzca la oxidación de los diferentes anillos de los hidrocarburos. Por ello, como resultado de esa reacción se obtendrá un bi-producto enzimático multicomponente llamado cis-dihidrioles. Posteriormente, son divididos estos componentes por las dioxigenasas en anillos intradiol o extradiol, para unirse mediante una vía de orto-escisión o meta-escisión, que conduce a la formación de productos intermediarios centrales como el protocatecuato y catecoles, que son los precursores del ciclo del ácido tricarboxílico (Vandera *et al.*, 2017).

Existen numerosas bacterias aerobias y anaerobias capaces de metabolizar a estos compuestos como los géneros *Xanthomonas*, *Comamonas*, *Burkholderia*, etc., tal como se muestra en el **Cuadro 2**, los cuales tienen características específicas para biodegradar a los HAPs. Por otro lado, un consorcio bacteriano puede lograr la biodegradación completa, gracias al potencial genético de estas y a los factores ambientales (**Figura 1**) (Vandera & Koukkou, 2017).



**Figura 1.** Ruta de degradación de fenantreno por bacterias (Vandera & Koukkou, 2017)

**Figure 1.** Pathway of phenanthrene degradation by bacteria (Vandera & Koukkou, 2017)



#### 4.4 Biorremediación de hidrocarburos en suelo y agua

Una característica común de los hidrocarburos es su biodegradación de forma aerobia y anaerobia. Sin embargo, la tasa de biodegradación aerobia depende de la complejidad de la molécula contaminante y de la disponibilidad de aceptores de electrones (Hidalgo *et al.*, 2020). Además, dicha biorremediación puede llevarse a cabo en condiciones *in situ* o *ex situ*.

a) *ex situ*, consiste en excavar el suelo contaminado y transportarlo a un sitio que ha sido preparado para la regeneración, en el que se realiza un movimiento constante para oxigenar y así facilitar la degradación, transformación e inmovilización de los contaminantes, a través de reacciones bióticas y abióticas, este método es amigable con el medio ambiente, porque utiliza una amplia variedad de microorganismos. Este método es capaz de biodegradar componentes del petróleo, reducir la toxicidad de los componentes gracias a la acción de enzimas presentes en los microorganismos asimilándolas en su biomasa microbiana e incorporándolos en sus procesos metabólicos, y convirtiendo los derivados de hidrocarburos complejos en dióxido de carbono y agua en condiciones aeróbicas. Este tipo de biorremediación logra una oxidación completa llamada mineralización de los contaminantes produciendo una biotransformación de compuestos orgánicos complejos a simples, y en una última etapa con lo que se produce una reducción de estos a menos tóxicos (Hidalgo *et al.*, 2020).

b) *in situ* se produce por atenuación natural y consiste en degradar naturalmente a los contaminantes del suelo gracias a la acción de varios factores ambientales como la humedad, tipo de contaminante, pH, materia orgánica, presencia de microorganismos autóctonos y otros factores por periodos de tiempo largos. También puede tener lugar por bioventilación aeróbica, la cual consiste en introducir oxígeno en el suelo, debido a las bajas concentraciones de este elemento, para así biodegradar aeróbicamente los contaminantes. Otra alternativa es la bioventilación cometafólica, que es muy similar a la bioventilación aeróbica, consistiendo en agregar un sustrato orgánico apropiado al suelo. Por último, cabe mencionar la bioventilación anaeróbica que consiste en inyectar un donante de electrones y nitrógeno en lugar de aire, de esta forma se generan condiciones anaeróbicas en el suelo contaminado (Ocampo Hernández, 2021).

También hay que mencionar la degradación de contaminantes en suelos por el proceso conocido como “compostaje” que consiste en el uso de microorganismos que degradan contaminantes a una temperatura de 40 °C – 50 °C, de acuerdo con la técnica establecida (Ocampo Hernández, 2021; Patel *et al.*, 2020).

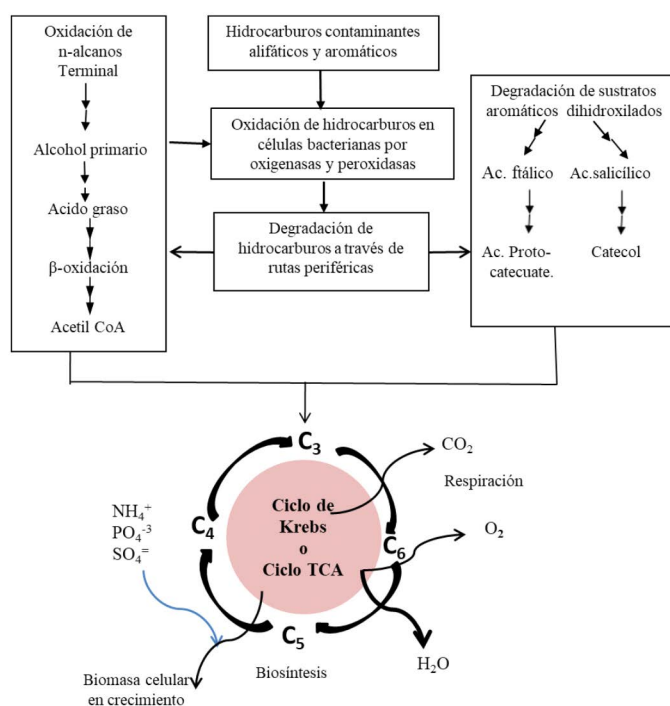
#### 5. Microorganismos con la capacidad de biorremediar sitios contaminados por hidrocarburos

La biodegradación del petróleo y sus derivados involucra desafíos para los microorganismos; ya que son mezclas complejas. La degradación de hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por bacterias, seguidas por hongos, levaduras y algas entre otros. Los hidrocarburos de bajo peso molecular son tóxicos al ser líquidos actuando como disolventes sobre las membranas



celulares de las células (las propiedades físicas de estos compuestos también afectan en la biodegradación, ver **Cuadro 2**). Debido a esto, los microorganismos han tenido que desarrollar una serie de adaptaciones, como su modificación de las vías metabólicas para ser capaces de utilizar hidrocarburos como sustratos. Han sido investigadas una gran variedad de bacterias con la capacidad de biodegradar diferentes tipos de hidrocarburos, contaminantes presentes en varios componentes ambientales y dicha biodegradación se lleva a cabo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas, dependiendo del género de bacterias usada, ver (**Figura 2**) (Imela, 2020).

El mecanismo de los microorganismos para la degradación de los contaminantes consiste en convertir las moléculas de HAPs en compuestos solubles como son  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , los cuales responden a una biodegradación aeróbica. Los microorganismos son capaces de oxidar el contaminante mediante el uso de enzimas oxigenasas y peroxidasas, que son responsables de la alimentación de oxígeno al hidrocarburo (**Figura 1**) (Hidalgo *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Principios generales de la degradación microbiana aeróbica de hidrocarburos aromáticos y alifáticos (Vandera & Koukkou, 2017).

**Figure 2.** General principles of aerobic microbial degradation of aromatic and aliphatic hydrocarbons (Vandera & Koukkou, 2017).



El petróleo crudo contiene mezclas de compuestos de hidrocarburos aromáticos y alifáticos que constituyen contaminantes del suelo y otros componentes ambientales. Se conoce que los compuestos aromáticos son más resistentes a la oxidación incluso con los oxidantes más potentes, debido a su estructura química que es muy estable. Sin embargo, los microorganismos poseen enzimas de tipo peroxidasas y oxigenasas que favorecen la oxidación, facilitando así la degradación de hidrocarburos aromáticos por rutas periféricas, siguiendo mecanismos que dependen de la naturaleza del hidrocarburo. Estas rutas generalmente culminan en estructuras de tipo catecol, en donde, siguiendo los procesos en el ciclo de Krebs, estas moléculas se reducen en estructuras inofensivas (Ghosal *et al.*, 2016). Con respecto a la degradación de los n-alcános, los carbonos terminales se oxidan sucesivamente a alcohol primario, aldehído y ácido graso, que tras una  $\beta$ -oxidación, se obtiene Acetil Co-enzima A, que luego se incorpora al ciclo de Krebs. Es suficiente que se hayan degradado en moléculas polares más pequeñas, estas son solubles en agua y, por lo tanto, ya no contaminan (Vandera & Koukkou, 2017).

### 5.1 Biodiversidad microbiana reportada en biorremediación de hidrocarburos en suelos por los métodos *in situ* y *ex situ*

La investigación de biorremediación se ha llevado a cabo en suelos contaminados por hidrocarburos poliaromáticos. A continuación, se reportan los microorganismos capaces de degradar diferentes hidrocarburos, como fenantreno y antraceno, presentes en la mayoría de los suelos. El fenantreno se trató por el método *in situ* y las bacterias que se reportaron como biodegradadoras fueron *Sphingomonas paucimobilis* EPA 505, *Sphingobium yanoikuyae* B1 (Zhao *et al.*, 2017), *Sphingomonas paucimobilis* NBRC 13935 (Zhao *et al.*, 2017), logrando un porcentaje de biodegradación de este compuesto en un rango de 65 % - 96.3 %, mientras que el porcentaje de biorremediación para *Acidovorax carolinensis* NA3 (Singleton *et al.*, 2018) y *Alcaligenes faecalis* FK2 DSM 30030 fueron del 90 % y 95 % respectivamente. Para los microorganismos *Brevundimonas*, *Actinobacteria*, *Burkholderia* sp. BB26, *Burkholderia* sp. BB24 y *Rhizobium* sp. BY8, las investigaciones mostraron un porcentaje de biorremediación del 80 %. Las bacterias *Rhizobium paknamense*, *Pseudomonas* sp. *Stenotrophomonas* han sido ampliamente estudiadas, logrando resultados de biorremediación en los porcentajes de 99 %, 98 % - 99 %, 95 % - 99 %, respectivamente; en los artículos revisados se encuentra poca información respecto a los genes de algunas bacterias que realizan biorremediación, ver el (Cuadro 2), solamente se tienen datos de los porcentajes de biorremediación de algunas bacterias en rangos del 65 % - 99 % (Arulazhagan *et al.*, 2016; Hidalgo *et al.*, 2020).

La degradación del antraceno tiene lugar por la presencia de tres géneros de bacterias, todas son del género *Actinobacterias* y se usan por el método *ex situ* o *in situ*. Cuando se utilizó *S. paucimobilis* EPA 505, se obtuvo una biodegradación del 93,3 %, por el método *ex situ* y cuando se usó *Sphingomonas* sp. BA2 por el método *in situ* (Ruan *et al.*, 2018) se obtuvieron resultados bajos de biodegradación, solo de un 26 % (Hidalgo *et al.*, 2020).



**Cuadro 2.** Bacterias reportadas en biorremediación de suelos y agua contaminados con hidrocarburos.

**Table 2.** Bacteria reported in bioremediation of soils and water contaminated with hydrocarbons.

Contaminantes	Bacteria biorremediadora	Medios de vida y/o material contaminado	Porcentaje de biorremediación y tipo de tratamiento	Referencias
Fenantreno	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> EPA 505	Suelo	<i>in situ</i> 65 % - 96.3 %	Zhao <i>et al.</i> (2017)
	<i>Sphingobium yanoikuyae</i> B1	Suelo	90 % - 95 %	Schuler <i>et al.</i> (2009)
	<i>Acidovorax carolinensis</i> NA3	suelo	<i>in situ</i> 84 % - 95 % 96 % - 99 %	Singleton <i>et al.</i> (2018)
	<i>Alcaligenes faecalis</i> FK2 (DSM 30030) <i>Brevundimonas</i>	Suelo	<i>in situ</i> 90 % - 95 %	Wong-Villarreal <i>et al.</i> (2017)
	<i>Actinobacteria</i>	Suelo	<i>ex situ</i> 9 %	(Ding <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Burkholderia</i> sp. BB26	Suelo	<i>in situ</i> 65 % - 78.5 %	Wong-Villarreal <i>et al.</i> (2017)
	<i>Burkholderia</i> sp. BB24	Suelo	<i>in situ</i> 68.5 %	
	<i>Rhizobium</i> sp. BY8	Suelo	<i>in situ</i> 99 %	
	<i>Rhizobium pakna-mense</i>	Suelo	<i>in situ</i> 99 %	
	<i>Pseudomonas</i> sp.	nr	<i>ex situ</i> 98 % -99 %	(Milic <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Stenotrophomonas</i>	nr	<i>ex situ</i> 95 % - 99 %	Zanaroli <i>et al.</i> (2010)
	<i>Sinorhizobium</i> sp. C4	nr	<i>ex situ</i>	(Keum <i>et al.</i> , 2008)
	Fluoreno	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> EPA 505	Suelo	<i>ex situ</i> 95.1 %
<i>Sphingobium yanoikuyae</i> B1		Suelo	Rendimiento <i>In situ</i> > 98 %	Schuler <i>et al.</i> (2009)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> NBRC 13935.		Suelo	n/d	(Viñas Canals, 2005)
<i>Actinobacteria</i>		Suelo	84 % -95 % 96 % - 99 %	Mutnuri <i>et al.</i> (2005)
<i>Mycobacterium</i> sp.		Suelo	Sin dato	(Vandera & Koukkou, 2017)
<i>Janibacter</i> sp. strain YY-1		Suelo	Sin dato	(Yamazoe <i>et al.</i> , 2004)





Contaminantes	Bacteria biorremediadora	Medios de vida y/o material contaminado	Porcentaje de biorremediación y tipo de tratamiento	Referencias
Acenafteno y Acenaftaleno	<i>Sphingobium yanoikuyae</i> B1		<i>ex situ</i> 28.7 %	Schuler <i>et al.</i> (2009)
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> NBRC 13935	Suelo	<i>ex situ</i> 89.3 %	(Viñas Canals, 2005)
	<i>Sphingomonas sp. strain A4</i>	Suelo	<i>ex situ</i>	Kouzuma <i>et al.</i> (2006)
Naftaleno	<i>Sphingomonas Paucimobilis</i> EPA 505	Suelo	<i>ex situ</i> 96.3 %	Desai <i>et al.</i> (2008)
	<i>Sphingomonas Paucimobilis</i> NBRC 13935	Suelo	--	Schuler <i>et al.</i> (2009)
	<i>Actinobacteria</i>	Suelo	<i>ex situ</i>	Kallimanis <i>et al.</i> (2009)
	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> IFP 2016 y <i>Rhodococcus aetherivorans</i> IFP 2017	Suelo	<i>ex situ</i> 100 % ± 7.3 %	Auffret <i>et al.</i> (2009)
Antraceno	<i>Actinobacteria</i>	Suelo	<i>ex situ</i> 93.3 %	(Viñas Canals, 2005)
	<i>Sphingobium yanoikuyae</i> B1		<i>ex situ</i> 28.7 %	Schuler <i>et al.</i> (2009)
	<i>Sphingomonas Paucimobilis</i> EPA 505	Reactivos Químicos	<i>in situ</i>	Desai <i>et al.</i> (2008); Story <i>et al.</i> (2004)
Pireno	<i>Mycobacterium Gilvum</i> VF1	nr	<i>ex situ</i> 53 %, 58 %, 71 %	Badejo <i>et al.</i> (2014); Mutnuri <i>et al.</i> (2005)
	<i>Mycobacterium Gilvum</i> VF1	nr	<i>ex situ</i> 53 %, 58%, 71%	Badejo <i>et al.</i> (2014); Mutnuri <i>et al.</i> (2005)
Fluoranteno	<i>Sphingomonas Paucimobilis</i> EPA 505	nr	<i>ex situ</i> 85.9 % -95 %	(Desai <i>et al.</i> , 2008; Luning Prak & Pritchard, 2002)
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> NBRC 13935	Suelo	<i>in situ</i> 82 %	(Zhao, 2017)
Metilfenantreno	<i>Altererythrobactersp.</i>	Agua de mar	<i>ex situ</i> 97.5 %	(Teramoto <i>et al.</i> , 2010)
Alcanos	<i>Ochrobactrum intermedium</i> LMG 3301	Suelo	<i>in situ</i> 87 % - 89 %	Chai <i>et al.</i> (2015)
	<i>Yersinia frederiksenii</i> ATCC 33641	nr	<i>ex situ</i>	(Das <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Actinobacteria</i>			
Hidrocarburos alifáticos clorinados, tricloroetileno	<i>Alcanivorax hongdengensis</i> A-11-3	Suelo y agua	<i>ex situ</i>	(Pereda Largo, 2010)
	<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 25416	Suelos	<i>ex situ</i>	(Vandera & Koukkou, 2017)
	<i>Burkholderia unamae</i> ,		94.5 %	
	<i>Burkholderia kururiensis</i> y <i>Burkholderia xenovorans</i>		50 % y 45 %	



Contaminantes	Bacteria biorremediadora	Medios de vida y/o material contaminado	Porcentaje de biorremediación y tipo de tratamiento	Referencias
Benzo (a) pireno	<i>Rhizobium tropici</i>	Suelos	<i>in situ</i> 45 % – 50 %	Wong-Villarreal <i>et al.</i> (2017)
Diesel	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> CA16	nr	<i>ex situ</i>	(Ho <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Actinobacteria</i>	nr	<i>in situ</i> 34.4 % y 88 %, 77 % – 100 %	
Antraceno y pireno	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> IFP 2016 y <i>Rhodococcus aetherivorans</i> IFP 2017	Suelo	<i>ex situ</i> > 90 %	Auffret <i>et al.</i> (2009)
Alcanos C22	<i>Acinetobacter baumannii</i> M1	nr	<i>in situ</i> 90 %	Tyagi <i>et al.</i> (2011)
Alcanos C13-C44	<i>Acinetobacter sp.</i> ADP1	nr	<i>in situ</i> 70 % Degradación del aceite usado de automóviles n-parafinas: Decano 0 %, undecano 0 %, dodecano 36.7 %, hexadecano 93.8 %, Eicosano 87 % pentacosano 85.3 % 80 % triacontano	(Romero Lacal, 2008)
Compuestos aromáticos				
(Hidrocarburos alifáticos Mezclas de n-alcanos	<i>Alcanivorax borkumensis</i>	nr	Sin dato <i>ex situ</i> <i>in situ</i> 80 % - 90 %	(van Beilen <i>et al.</i> , 2004)
	<i>Nocardioides sp.</i> Strain CF8	nr	<i>in situ</i> 30 % butano 84 % - 95 % 96 % - 99 %	(Vandera & Koukkou, 2017)
Alcanos C5-C36	<i>Alcanivorax diéselolei</i> B5	agua	<i>in situ</i> 90 % 60 % – 70 %	(Kaplan & Kitts, 2004)
Alcanos C18-C24	<i>Alcanivorax diéselolei</i> B5	Agua	Ex situ	(Lai, 2012)



Contaminantes	Bacteria biorremediadora	Medios de vida y/o material contaminado	Porcentaje de biorremediación y tipo de tratamiento	Referencias
n-alcanos	<i>Actinobacteria</i>	Suelo	<i>in situ</i> 90 % <i>in situ</i> 90 %	(Romero Lacal, 2008)
	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> MGP-1	nr	<i>ex situ</i> C16: 96 % - 92.4 % C24: 94.8 % - 91.3 % C30: 93.6 % - 89.4 % C40: 93.5 % - 88.3 %	(Salgado <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Rhodococcus opacus</i> R7		<i>in situ</i> Carbons: C12: 88% C16: 69% C20: 51% C24: 78% 84 % - 95% 96 % - 99%	Pathak <i>et al.</i> (2016); (Zampolli <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Dietzia</i>	nr	<i>ex situ</i>	(Bihari, 2011)
	<i>Pseudomonas butanavora</i>	nr	<i>ex situ</i>	(Kurth <i>et al.</i> , 2008)
o-xileno	<i>Actinobacteria</i>		<i>ex situ</i> 56.0-89.8 % C12: 88 % C16: 69 % C20: 51 % C24: 78 %.	(Zampolli <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> IFP 2016 y <i>Rhodococcus aetherivorans</i> IFP 2017	Suelo	<i>ex situ</i> 100 % ± 2.4 %	Auffret <i>et al.</i> (2009)
	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i>	nr	<i>in situ</i> 100 % 63,2 % ± 1,98 %	Zhao <i>et al.</i> (2017)
Policlorobifenilos (PCBs)	<i>Rhodococcus opacus</i> R7	nr	<i>in situ</i> 36 %	(Xu <i>et al.</i> , 2016)
Policlorobifenilo (PCB)	<i>Rhodococcus jostii</i> RHA1	nr	<i>in situ</i>	Takeda <i>et al.</i> (2010)



Contaminantes	Bacteria biorremediadora	Medios de vida y/o material contaminado	Porcentaje de biorremediación y tipo de tratamiento	Referencias
Cresol, benzoato, Fenol, Tolueno	<i>Sphingomonas</i>	Suelo	<i>ex situ</i> 85.9 %	(Desai <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Paucimobilis</i> EPA 505			
	<i>Pseudomona putida</i> F1	nr	<i>ex situ</i>	(Romero Lacal, 2008; Smith <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Pseudomona putida</i> DOT-T1E <i>Ralstonia pickettii</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> MGP-1	nr	<i>ex situ</i> < 85 %	(Salgado <i>et al.</i> , 2007)
xileno	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> IFP 2016 y <i>Rhodococcus aetherivorans</i> IFP 2017 <i>Planctomyces sp.</i> SH-PL14	Desecho de agua	<i>ex situ</i>	Silva <i>et al.</i> (2012)
	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> IFP 2016 y <i>Rhodococcus aetherivorans</i> IFP 2017	Suelo	<i>ex situ</i> 100 % ± 2.4 %	Auffret <i>et al.</i> (2009)
	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i> DSM 12444	nr	<i>ex situ</i> 93.2 %	Keum <i>et al.</i> (2008); Lyytikäinen, 2007; Zhou <i>et al.</i> (2011)
Diferentes Hidrocarburos aromáticos policíclicos PAHs				

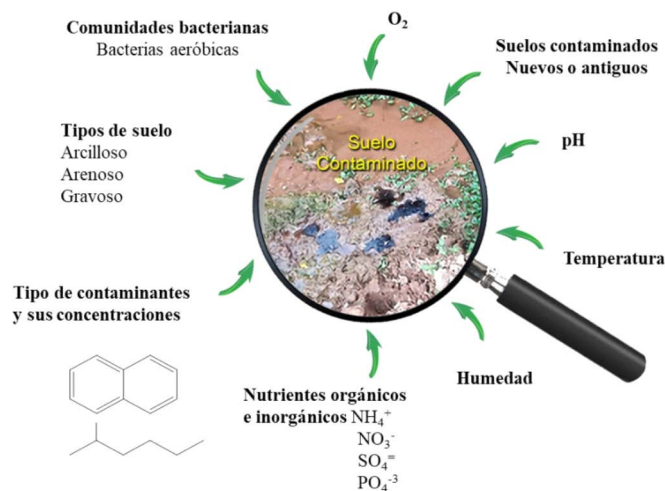
## 6. Factores fisicoquímicos que aceleran el proceso de biorremediación de hidrocarburos

La biodegradación aerobia de compuestos de hidrocarburos presentes en suelos y cuerpos de agua dependen de varios factores (**Figura 3**). Uno es la estructura de los microorganismos nativos, ya que esto viene influenciado por la concentración del contaminante si es reciente o antigua, así como la salinidad del ecosistema, el oxígeno, el pH y la disponibilidad de nutrientes. La eficiencia de tratamiento de sitios contaminados por hidrocarburos, mediante la técnica de biorremediación, depende de la velocidad de degradación de los contaminantes (Hidalgo *et al.*, 2020; Vandera & Koukkou, 2017). Los HAPs sufren transformaciones fisicoquímicas al ingresar al ambiente, estas son volatilización, fotólisis, adsorción y oxidación debido a la presencia de oxígeno abundante. La biodegradación microbiana de estos compuestos es un proceso ambiental determinante para su destino final en los ecosistemas (Hidalgo *et al.*, 2020). El suelo es un componente ambiental que genera vida gracias a su composición, contiene elementos biológicos, químicos minerales y físicos. Los componentes químicos facilitan la erosión de las rocas, la materia orgánica llamada humus, y la biomasa compacta, la cual está formada por seres vivos, gases y agua.



En un proceso de biorremediación, es importante la heterogeneidad física del suelo. Al existir suelos franco arenosos, arcillosos y con un alto contenido de materia orgánica, que al parecer tienen influencia en el tratamiento, afectando a la biodegradación de los hidrocarburos, se ha podido observar que existe un gran número de unidades formadoras de colonias de tipo autóctonas con capacidad de mineralizar compuestos orgánicos, mediante el uso del carbono e hidrógeno de los compuestos de petróleo como sustrato (Vandera & Koukkou, 2017). Los HAPs están presentes tanto en ambientes terrestres como marinos, por ello, las comunidades microbianas en entornos de hidrocarburos se ven influenciadas por la complejidad, la concentración y el tiempo de exposición a las mezclas de estos componentes.

Los alcanos formados por mezclas de alcanos de tipo  $C_{10} - C_{20}$  son más tóxicos que los de mayor número de átomos de C ( $C_{20} - C_{40}$ ). También, se han investigado diferentes mezclas de petróleo (diésel, querosén) presentes en tres tipos de suelos diferentes y se observaron cambios en el RNA de las comunidades bacterianas, indicativo de que el tipo de mezcla de petróleo influyó en la degradación de hidrocarburos y en el tipo de población bacteriana presente (Figura 3) (López, 2021; Vandera & Koukkou, 2017).



**Figura 3.** Suelo contaminado con HAPs y factores que intervienen en el proceso de biodegradación Vandera & Koukkou, 2017).

**Figure 3.** Soil contaminated with PAHs and factors that intervene in the biodegradation process Vandera & Koukkou, 2017).

### 6.1 Sitios recientes y antiguos contaminados con hidrocarburos

Algunos autores han observado que hay una reducción en la riqueza y diversidad de bacterias en sitios contaminados recientemente por hidrocarburos de petróleo, mientras que otros estudios demuestran un aumento en las unidades formadoras de colonias de bacterias, así como en su tasa de biodegradación en los sitios contaminados antiguos. Pero ambos estudios confirman





que los primeros en biodegradarse son los hidrocarburos alifáticos en comparación con los hidrocarburos aromáticos, ya que estos últimos contaminantes son muy estables debido a la presencia de los dobles enlaces (López *et al.*, 2021).

Los microorganismos del suelo se ven afectados en gran medida por la contaminación a largo plazo. Por otro lado, la biodegradación se ve afectada por la contaminación, la competencia por los nutrientes (N, P, C), la biodisponibilidad de los contaminantes, el tipo de suelo y la resistencia de las comunidades de microorganismos a la presencia de mezclas de hidrocarburos (Liang *et al.*, 2016). La reducción de la diversidad microbiana podría deberse a amenazas ecológicas selectivas (Morais *et al.*, 2016; Patel *et al.*, 2016) por la presencia de TPH que genera hidrocarburos tóxicos para gran variedad de microorganismos, lo que hace que su biodegradación sea muy difícil (Hariyo, 2020; Liao *et al.*, 2015).

## 6.2 Influencia del pH en la biodegradación

La recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos depende de varios factores fisicoquímicos como el pH. Es sabido que las comunidades microbianas para realizar el proceso de biorremediación deben desarrollarse dentro de ciertos rangos de pH, ya que determina el grado de absorción de iones por las partículas del suelo, afectando su solubilidad, movilidad y disponibilidad, siendo estos factores determinantes para el proceso de biorremediación (Hidalgo, 2020). Así, frente a pHs extremos ( $>8$  o  $<4$ ), la biodegradación es muy lenta y los estudios muestran que los suelos contaminados por hidrocarburos son principalmente ácidos, por cuanto se limita el crecimiento de ciertos microorganismos en ciertos rangos. Una buena biodegradación debería presentar un pH entre 6 - 8, si se pretende que se mantengan largos períodos de biodegradación (7.4 - 7.8, pH óptimo). Un aspecto muy importante por considerar es que la variación de pH afecta tanto a la actividad del microorganismo como a la posible solubilización y absorción de los iones ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) presentes en los contaminantes (Hariyo, 2020).

## 6.3 Adición de nutrientes y oxígeno

La contaminación por petróleo provoca un desequilibrio en las relaciones carbono-nitrógeno en el sitio contaminado, por lo que es importante realizar la adición de nutrientes como aceptores de electrones como es el caso de los átomos de P, N, O, con el objetivo de promover el crecimiento de microorganismos nativos que realizarán la biorremediación. Las tasas de oxígeno en el suelo contaminado disminuyen, debido a las altas concentraciones de hidrocarburos. Este elemento es un aceptor de electrones en los procesos de biorremediación aeróbica, por lo tanto, mejora el crecimiento de bacterias (Vandera & Koukkou, 2017). Estudios realizados mostraron que la entrada de oxígeno a los sitios anóxicos puede tener un efecto importante en el aumento de la diversidad bacteriana que resulta en la cantidad de HAP, así los genes degradadores serían gamma-proteobacterias no determinadas y *Acidovorax* (Singleton *et al.*, 2018). Por otro lado, el aumento de bacterias puede ser causado por degradadores potenciales y disminución



de compuestos tóxicos. Así, en tratamientos con aireación a largo plazo se ha identificado mayoritariamente el género *Actinobacteria*. Las bacterias nativas tienen la capacidad de adaptarse en condiciones anóxicas / óxicas, llevando a cabo la biodegradación de hidrocarburos en condiciones similares (Terrisse *et al.*, 2017). El género de *Pseudomonas* incluye las bacterias pioneras en la degradación de HAP, porque tienen la capacidad de oxidar compuestos fácilmente biodisponibles, gracias a que son capaces de producir sus propios biosurfactantes (Araujo *et al.*, 2016; Hariyo, 2020).

#### 6.4 Influencia de la temperatura en los procesos de biorremediación

La temperatura puede favorecer el incremento de la biodiversidad de bacterias en el suelo y el mar, especialmente cuando están contaminadas con HAPs, afectando a las tasas de volatilización, solubilidad y difusión; por lo tanto, a la biodisponibilidad de hidrocarburos. Por otra parte, la temperatura del medio afecta en el metabolismo microbiano para obtener una mejor degradación de los hidrocarburos, afectando así a su tasa de biodegradación y al comportamiento fisicoquímico de estos componentes (Bargiela *et al.*, 2015).

Se ve aumentada la solubilidad de los HAPs a medida que aumenta la temperatura, por tanto, aumenta su biodisponibilidad; sin embargo, el nivel del oxígeno disuelto disminuye y, por consecuencia, la actividad metabólica de las bacterias aerobias hemofílicas se reduce. Existen también microorganismos psicrófilos, en los que su medio ambiente es a bajas temperaturas en contra de los termófilos que se encuentran en condiciones de altas temperaturas, por lo que en estas condiciones los productos pueden ser más peligrosos que los originales por que inhiben su biodegradación (Ghosal *et al.*, 2016).

En ambientes con bajas temperaturas, existen colonias de microorganismos psicrófilos y psicrotolerantes que tienen la capacidad de adaptarse a condiciones extremas, especialmente microorganismos nativos capaces de degradar *in situ* hidrocarburos alifáticos y aromáticos. La capacidad de adaptarse a climas fríos y la biodegradación de hidrocarburos en climas extremos ha sido estudiada por varios investigadores, siendo los siguientes géneros los más comunes *Pseudomonas*, *Pedobacter*, *Brevundimonas*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter* y *Bacillus* (Ghosal *et al.*, 2016).

#### 6.5 Influencia de la humedad en la biorremediación

La cantidad de agua disponible en el medio ambiente limita la biodegradación de hidrocarburos en ecosistemas terrestres, al ser un factor que influye en el crecimiento y el metabolismo de los contaminantes, así como de las bacterias. La humedad es un factor importante, ya que actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a las células. Las tasas óptimas de biodegradación ocurren cuando la saturación del agua en el suelo es del 30 % - 90 %, pues en porcentajes más bajos esta degradación es inhibida, debido a la disminución de la actividad metabólica de las bacterias. Un alto porcentaje de humedad en el suelo impide la transferencia de



gases, porque los poros de los suelos se llenan de agua y no de oxígeno, factor esencial para que tenga lugar la biorremediación en condiciones aerobias (Hariyo, 2020).

## 7. Discusión

El estudio de la composición de las comunidades microbianas presentes en suelos contaminados es esencial para llevar a cabo la biorremediación. Los microorganismos sobreviven en todos los lugares de la biosfera, debido a que su actividad metabólica es asombrosa. Las bacterias son capaces de crecer en condiciones ambientales extremas de pH, temperatura, humedad, oxígeno, nutrientes y composición de suelo, estos son factores externos de la biorremediación que ayudan a conseguir las condiciones favorables. La capacidad nutricional de los microorganismos es completamente variada, por lo que se les utiliza como biorremediadores de contaminantes ambientales como es el petróleo y sus derivados. Esta técnica tiene un gran potencial para la recuperación de sitios contaminados y está muy involucrada en la degradación y erradicación de hidrocarburos procedentes del petróleo, llevándose a cabo de manera enzimática y con la intervención de sus genes, a través del metabolismo catabólico de las enzimas presentes en dichos microorganismos, por lo que tiene un papel de contribución positiva para resolver muchos problemas ambientales, al ser una biotecnología económica y amigable con el medio ambiente, porque no produce impactos ambientales negativos resultado de los procesos de tratamiento de los ecosistemas contaminados. De forma similar, las condiciones bióticas y abióticas determinan la tasa de degradación del contaminante. Los consorcios bacterianos más utilizados para el tratamiento de hidrocarburos policíclicos son la *Sphingomonas paucimobilis* EPA 505, *Burkholderia* sp. y *Stenotrophomonas*, entre otras más.

Las técnicas de biorremediación más aplicadas actualmente en el mundo son la bioestimulación, bioaumento, bioventilación, biopilas y bioatenuación. Todas tienen sus propias ventajas y desventajas porque tienen su propia aplicación específica.

## 8. Conclusiones

Se puede concluir que los países a nivel global y, en particular, los latinoamericanos dependen de la generación de recursos económicos provenientes de los recursos naturales no renovables como el petróleo y sus derivados. Esta dependencia produce graves problemas ambientales y varias consecuencias negativas como la degradación de los ecosistemas de donde se extraen estos productos. Los afectados directos son las comunidades indígenas y campesinas de los países latinoamericanos, porque de sus territorios se extraen los recursos, ellos sufren cada día la pérdida de sus fuentes de vida, como el agua, la flora y fauna.

La composición química de los compuestos de petróleo es compleja, pues dependiendo de sus características químicas y pueden clasificarse como fácilmente biodegradables, medianamente biodegradables y no biodegradables o llamados recalcitrantes.



Se ha presentado un resumen de los riesgos para la salud de los hidrocarburos aromáticos, cuando las personas se exponen a estos compuestos; se analizaron las principales características de los alcanos, hidrocarburos monoaromáticos y los poliaromáticos. Como ejemplo, se presenta la ruta metabólica de degradación bacteriana del fenantreno, así como los principios generales de degradación microbiana aeróbica de hidrocarburos aromáticos y alifáticos. También se analizaron minuciosamente los microorganismos con capacidad de biorremediar sitios contaminados por hidrocarburos, así como los genes involucrados y sus enzimas de las bacterias.

En este artículo de revisión se centró la atención particularmente en los hidrocarburos aromáticos policíclicos; estos compuestos pueden ser biodegradados por un consorcio o comunidades bacterianas individuales, como es el caso del fenantreno (compuesto aromático) que puede ser biodegradado por 11 diferentes cepas bacterias (*Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Alkaligenes*, *Actinobacterias*, *Burkholderia sp.*, *Rhizobium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Stenotrophomonas*, *Sinorhizobium* y *Esfingomonas*). Las bacterias que biodegradaban el acenafteno y al naftaleno pertenecen principalmente al grupo *Sphingomonas* y *Rhodococcus*. El antraceno fue biodegradado por diferentes bacterias tales como *Actinobacteria*, *Sphingobium*, *Shingomonas* y *Mycobacterium* y las dos últimas bacterias biodegradan, además, al pireno y el fluoranteno. Los alcanos fueron biodegradados por diferentes grupos de bacterias, *Ochrobactrum intermedium*, *Yersinia frederiksenii*, *Alkanivorax*, *Methylosinus*; los hidrocarburos alifáticos clorados y el tricloroetileno fueron biodegradados por un consorcio de diferentes bacterias; y el diésel fue biodegradado por *Rhizobium tropici* y *Actinobacterias*. Una mezcla de antraceno, pireno, *o*-xileno, PCB, cresol, benzoato, fenol y tolueno fueron degradados por un consorcio de bacterias distintas del grupo *Rhodococcus*. Se evidenció en la bibliografía que existen más de 136 bacterias biodegradadoras de hidrocarburos y sus derivados, en procesos aeróbicos como anaeróbicos, mediante métodos *in situ* o *ex situ*, principalmente en suelos y muy pocos en agua. Por otro lado, en algunas publicaciones no informaron cuáles fueron los genes que codifican a las enzimas o proteínas involucradas en la biorremediación, para comprender sus mecanismos de acción.

Se puede verificar en detalle en el (Cuadro 2) los nombres de los contaminantes, el tipo de bacteria que tiene la capacidad de biodegradar hidrocarburos con diferentes características químicas, los medios en los que se encontraron o hicieron las investigaciones para determinar el poder de biodegradación, los porcentajes de biorremediación obtenidos, genes que intervinieron y las referencias bibliográficas.

Se realizó la revisión de artículos científicos sobre los factores fisicoquímicos que aceleran el proceso de biorremediación, variables determinantes a tomar en cuenta en trabajos de investigación sobre biorremediación. En los sitios contaminados recientemente, se ve reducida la riqueza de la diversidad bacteriana, mientras que en sitios contaminados hace mucho tiempo se informa que la cantidad de bacterias y su tasa de biodegradación se incrementó. El pH de los sitios contaminados es determinante para que los microorganismos desarrollen el proceso de biorremediación, dependiente de esta variable para la absorción de iones por las partículas del



suelo, y, por tanto, la solubilidad, movilidad y disponibilidad que mejoran en rangos de pH de 7.4 a 7.8, por tanto, la biodegradación del hidrocarburo es óptima.

Otras variables fisicoquímicas son la adición de nutrientes y oxígeno, porque el artículo de revisión presente se centró en procesos de biorremediación aerobia. Es preciso agregar a los sitios contaminados nutrientes como aceptores de electrones como el fósforo, nitrógeno y oxígeno, este último en particular para favorecer el crecimiento bacteriano, de preferencia de los microorganismos nativos aerobios del suelo y, a la vez, es un excelente aceptor de electrones en tratamientos aerobios.

Es importante considerar la influencia de la temperatura en estos tratamientos, dado que favorece el crecimiento de la diversidad bacteriana en el suelo contaminado y, así mismo, afecta la tasa de volatilidad de los compuestos con estas características, así como también afecta en el metabolismo microbiano, logrando una mejor degradación de los hidrocarburos. La humedad es otro factor clave porque influye en el crecimiento bacteriano y su metabolismo, sirve como medio de transporte de nutrientes y oxígeno, los porcentajes óptimos de saturación del agua en el suelo contaminado es del 30 % al 90 %.

Se buscó aportar con esta revisión bibliográfica, opciones de solución viables ambiental, económica y socialmente a variados problemas de contaminación por hidrocarburos de los ecosistemas latinoamericanos, que tienen que enfrentar los diferentes Gobiernos.

## 9. Ética y conflicto de intereses

Las personas autoras declaran que han cumplido totalmente con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la producción del manuscrito; que no hay conflictos de intereses de ningún tipo; que todas las fuentes financieras se mencionan completa y claramente en la sección de agradecimientos, y que están totalmente de acuerdo con la versión final editada del artículo.

## 10. Agradecimientos

A la Revista y las personas revisoras por sus atinados comentarios y sugerencias a la versión final del artículo.





## 11. Referencias

- Abasolo Pacheco, F., & Morante Carriel, L. A. (2020). *Bacterias degradadoras de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con hidrocarburos*. Biblioteca Colloquium. <http://colloquiumbiblioteca.com/index.php/web/article/view/33>
- Araujo J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, A., Depool, B. & Rojas, Y. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del género *Aspergillus* para la descontaminación de agua con hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs). *Revista Cubana de Quimica*, 28(2), 703-735. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443546334013>
- Arrieta Ramírez, O., Rivera, Rivera, A., Arias Marín, L., Rojano, B., Ruiz, O. & Cardona Gallo, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diésel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente*, 15(1), 27-39. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424101004>
- Auffret, M., Labbe, D., Thouand, G., Greer, C. W., & Fayolle-Guichard, F. (2009). Degradation of a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives by *Rhodococcus aetherivorans* and *Rhodococcus wratislaviensis*. *Appl Environ Microbiol*, 75(24), 7774-7782. <https://doi.org/10.1128/AEM.01117-09>
- Arulazhagan, P., Al-Shekri, K., Huda, Q., Godon, J. J., Basahi, J. M., & Jeyakumar, D. (2016). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by an acidophilic *Stenotrophomonas maltophilia* strain AJH1 isolated from a mineral mining site in Saudi Arabia. *Extremophiles*, 21(1), 163-174. <https://doi.org/10.1007/s00792-016-0892-0>
- Azubuiké, Ch. Ch., Chikere Ch.B. & Okpokwasili G. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations, and prospects. *World J Microbiol Biotechnol* 32:180. [Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects | SpringerLink](https://doi.org/10.1007/s12248-016-0892-0)
- Badejo A. C., Chung W. H., Kim N. S., Chai J. C., Lee Y. S. & Jung K. H. (2014). Energy metabolism in *Mycobacterium gilvum* PYR-GCK: insights from transcript expression analyses following two states of induction. *PLoS One*, 9(6), e99464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099464>
- Bargiela, R., Mapelli, F., Rojo, D., Chouai, B., Tornés, J., Borin, S., Richeter, M., Del Pozo, M., Cappello, S., Gertler, C., Genovese, M., Denaro, R., Martínez, M., Fodelianakis, S., Amer, R., Bigazzi, D., Han, X., Chen, J., Chernikova, T... & Ferrer, M. (2015). Bacterial population and biodegradation potential in chronically crude oil-contaminated marine sediments are strongly linked to temperature. *Sci Rep*, 5, 11651. <https://doi.org/10.1038/srep11651>
- Bihari Z., S. A., Szabo Z., Blastyak A., Zombori Z., Balazs M. & Kiss I. (2011). Functional analysis of long-chain n-alkane degradation by *Dietzia* spp. *FEMS Microbiology Letters*, 316(2), 100-107. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02198.x>



- Chai L. J., Jiang X. W., Zhang F., Zheng B.W., Shu F.C. & Wang Z.L. (2015). Isolation and characterization of a crude oil degrading bacteria from formation water: comparative genomic analysis of environmental *Ochrobactrum intermedium* isolate versus clinical strains. *J Zhejiang Univ Sci B*, 16(10), 865-874. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500029>
- Coll Almela, M. D. (2021). *Construyendo materia orgánica en suelos degradados bajo clima semiárido mediante el uso de enmiendas orgánicas* [Tesis de doctorado, Universidad de Murcia]. Repositorio Institucional de la Universidad de Murcia. <http://hdl.handle.net/10201/101951>
- Das, R., Shimamoto, T., & Arifuzzaman, M. (2011). A Novel msDNA (Multicopy Single-Stranded DNA) Strain Present in *Yersinia frederiksenii* ATCC 33641 Contig01029 Enteropathogenic Bacteria with the Genomic Analysis of It's Retron. *J Pathog*, 2011, 1-6. <https://doi.org/10.4061/2011/693769>
- Desai, A. M., Autenrieth, R. L., Dimitriou-Christidis, P., & McDonald, T. J. (2008). Biodegradation kinetics of select polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures by *Sphingomonas paucimobilis* EPA505. *Biodegradation*, 19(2), 223-233. <https://doi.org/10.1007/s10532-007-9129-3>
- Ding, G. C., Heuer, H., & Smalla, K. (2012). Dynamics of bacterial communities in two unpolluted soils after spiking with phenanthrene: soil type specific and common responders. *Front Microbiol*, 3, 290. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00290>
- Feng, L., Jiang, X., Huang Y., Wen, D., Fu, T., & Fu, R. (2021). Petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sphorolipid. *Environmental Pollution*, 273, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116476>
- Fritz Feichtner, M. (2020). Toxic Ghost Acres, o la dinámica de la eliminación de desechos de producción de petróleo en la Amazonía ecuatoriana, de los años setenta a noventa. *Rachel Carson Center*, 10(1), 23-51. <https://doi.org/10.32991/2237-2717.2020v10i1.p23-51>
- Guevara Ramírez, G. V. (2017). *La identidad cultural de los jóvenes Weenhayek con relación a los cambios que atraviesa su sociedad* [Tesis de grado, Universidad de Mayor de San Andrés]. Repositorio Institucional de Universidad de Mayor de San Andrés. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/14921/234.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. *Front Microbiol*, 7(1), 1-27. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369>
- Hariyo, D. D. (2020). *Comunidades microbianas asociadas a la remoción de fenantreno en suelo: efecto de la aplicación de *Medicago sativa* L. en el proceso de biorremediación* [Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. Repositorio Institucional de la UNLP. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/110010>



- Hernández-Valencia I., Manuel Lárez, L., & Vicente García, J. (2017). Evaluación de la toxicidad de un suelo contaminado con diferentes tipos de crudos sobre la germinación de dos pastos tropicales. *BIOAGRO*, 29(2), 73-82. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612017000200001](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612017000200001)
- Hidalgo, K. J., Sierra-Garcia, I. N., Dellagnezze, B. M., & de Oliveira, V. M. (2020). Metagenomic Insights Into the Mechanisms for Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Oil Supply Chain. *Front Microbiol*, 11, 561506. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.561506>
- Heiss-Blanquet, S., Benoit, Y., Marechaux, C., & Monot, F. (2005). Assessing the role of alkane hydroxylase genotypes in environmental samples by competitive PCR. *J Appl Microbiol*, 99(6), 1392-1403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02715.x>
- Ho, M. T., Weselowski, B., & Yuan, Z. Ch. (2017). Complete Genome Sequence of *Acinetobacter calcoaceticus* CA16, a Bacterium Capable of Degrading Diesel and Lignin. *American Society for Microbiology*. 5(24). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00494-17>
- Hu, B., Wang, M., Geng, S., Wen, L., Wu, M., Nie, Y., & Wu, X. L. (2020). Metabolic Exchange with Non-Alkane-Consuming *Pseudomonas stutzeri* SLG510A3-8 Improves n-Alkane Biodegradation by the Alkane Degradator *Dietzia* sp. Strain DQ12-45-1b. *Appl Environ Microbiol*, 86(8), 1-2. <https://doi.org/10.1128/AEM.02931-19>
- Kallimanis, A., Kavakiotis, K., Perisynakis, A., Sproer, C., Pukall, R., Drinas, C., & Koukkou, A. I. (2009). *Arthrobacter phenanthrenivorans* sp. nov., to accommodate the phenanthrene-degrading bacterium *Arthrobacter* sp. strain Sphe3. *Int J Syst Evol Microbiol*, 59(2), 275-279. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000984-0>
- Kaplan, C. W., & Kitts, C. L. (2004). Bacterial Succession in a Petroleum Land Treatment Unit. *Appl Environ Microbiol*, 70(3), 1777-1786. <https://doi.org/10.1128/aem.70.3.1777-1786.2004>
- Keum, Y. S., Seo, J. S., Li, Q. X., & Kim, J. H. (2008). Comparative metabolomic analysis of *Sinorhizobium* sp. C4 during the degradation of phenanthrene. *Appl Microbiol Biotechnol*, 80(5), 863-872. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1581-4>
- Kouzuma, A., Pinyakong, O., Nojiri, H., Omori, T., Yamane, H., & Habe, H. (2006). Functional and transcriptional analyses of the initial oxygenase genes for acenaphthene degradation from *Sphingomonas* sp. strain A4. *Microbiology*, 152(8), 2455-2467. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28825-0>
- Kurth, E. G., Doughty, D. M., Bottomley, P. J., Arp, D. J., & Sayavedra-Soto, L. A. (2008). Involvement of BmoR and BmoG in n-alkane metabolism in '*Pseudomonas butanovora*'. *Microbiology*, 154(1), 139-147. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/012724-0>





- Lai, Q., Li, W., & Shao, Z. (2012). Complete genome sequence of *Alcanivorax dieselolei* type strain B5. *Journal Bacteriology*, 194(23), 66-74. <https://doi.org/10.1128/JB.01813-12>
- Ławniczak, Ł., Wozniak-Karczewska, M., Loibner, A. P., Heipieper, H. J. & Chrzanowski, L. (2020). Microbial Degradation of Hydrocarbons-Basic Principles for Bioremediation: A review. *Molecules*. 25(4), 1-19. <https://doi.org/doi:10.3390/molecules25040856>
- Liang, Y., Zhao, H., Deng, Y., Zhou, J., Li, G., & Sun, B. (2016). Long-Term Oil Contamination Alters the Molecular Ecological Networks of Soil Microbial Functional Genes. *Front Microbiol*, 7, 60. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00060>
- Liao, J., Wang, J., Jiang, D., Wang, M. C., & Huang, Y. (2015). Long-term oil contamination causes similar changes in microbial communities of two distinct soils. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(23), 10299-10310. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6880-y>
- López, L., & Infante, C. (2021). Cambios en los Biomarcadores de la fracción de hidrocarburos saturados en un ensayo de biorremediación con un crudo extrapesado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 37, 119-131. <https://doi.org/10.20937/rica.53718>
- Lugo Mancilla, L. L. (2017). *Interpretación conceptual del estado actual de la biorremediación realizada por microorganismos sobre hidrocarburos aromáticos policíclicos derivados del petróleo*. [Tesis de maestría, Universidad de Manizales. Colombia]. Repositorio Institucional de la Universidad de Manizales. <https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/handle/20.500.12746/4085>
- Luning Prak, D. J., & Pritchard, P. (2002). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons dissolved in Tween 80 surfactant solutions by *Sphingomonas paucimobilis* EPA 505. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(2), 151-158. <https://doi.org/10.1139/w02-004>
- Lyytikäinen, M., Pehkonen, S., Akkanen, J., Leppanen, M., & Kukkonen, J. (2007). Bioaccumulation and biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons during sediment tests with oligochaetes (*Lumbriculus variegatus*). *Wiley-Blackwell*, 26(12), 2660-2666. <https://doi.org/10.1897/01-171.1>
- Mutnuri, S., Vasudevan, N., & Kaestner, M. (2005). Degradation of anthracene and pyrene supplied by microcrystals and non-aqueous-phase liquids. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67(4), 569-576. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1905-6>
- Milic, J., Beskoski Vladimir, P., Ilic Mila, V., Samira Ali, A., Gordana Gojgic-Cvijovic, D., & Miroslov Vrvic, M. (2009). Bioremediation of Soil Heavily Contaminated with Crude Oil and Its Products: Composition of the Microbial Consortium. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(4), 455-460. <https://doi.org/10.2298/jsc0904455m>





- Morais, D., Pylro, V., Clark, I. M., Hirsch, P. R., & Totola, M. R. (2016). Responses of microbial community from tropical pristine coastal soil to crude oil contamination. *PeerJ*, 4, 1733. <https://doi.org/10.7717/peerj.1733>
- Morante-Carriel L., Canchignia H.F., Morante-Carriel J., Romero-Meza R., Cedeño Moreria A., Abasolo-Pacheco F. (2019). *Bacterias con potencialidades para la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados de Quevedo, Ecuador*.
- Moyna Mendoza, D., Minchola Paredes, C., Castillo Quinto, P., Riquelme, Salas, A., & Zavala Vásquez, D. (2021). *Valoración Económica de los beneficios sociales del Río Corrientes, ante posibles daños ocasionados por la actividad petrolera en las comunidades aledañas a la plataforma Valencia, Loreto, 2021*. <https://hdl.handle.net/20.500.12788/150>
- Ocampo Hernández, C. E. (2021). El potencial de la biorremediación. *Universidad autónoma de Hidalgo*, 2(2), 30-33. <https://doi.org/10.29057/h.v2i2.6285>
- Patel, A. B., Shaikh, S., Jain, K. R., Desai, C., & Madamwar, D. (2020). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. *Front Microbiol*, 11, 1-23. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>
- Patel, V., Sharma, A., Lal, R., Al-Dhabi, N. A., & Madamwar, D. (2016). Response and resilience of soil microbial communities inhabiting in edible oil stress/contamination from industrial estates. *BMC Microbiol*, 16, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0669-8>
- Pathak, A., Chauhan, A., Blom, J., Indest, K. J., Jung, C. M., Stothard, P., Bera, G., Stefan, J., & Ogram, A. (2016). Comparative Genomics and Metabolic Analysis Reveals Peculiar Characteristics of *Rhodococcus opacus* Strain M213 Particularly for Naphthalene Degradation. *PLoS One*, 11(8), 1-32. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161032>
- Pereda Largo, E. (2010). Degradación de alcanos por células de *alcanivorax Venustensis* inmovilizadas en hidrogeles adhesivos y biodegradables. [Tesis Doctoral, Universidad del País Vasco]. Ehubiblioteka. <http://hdl.handle.net/10810/12269>
- Rakowska, J. (2020). Remediation of diesel-contaminated soil enhanced with firefighting foam application. *Sci Rep*, 10(1), 8824. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65660-3>
- Ratledge, C. (1994). Biodegradation of oils, fats and fatty acids. En C. Ratledge (Eds) *Biochemistry of microbial degradation* (pp. 89-141). Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1687-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1687-9_4)
- Romero Izquierdo, A. R. (2013). Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. Dipòsit Digital. <http://hdl.handle.net/2445/53361>





- Romero Lacal, J. (2008). *Caracterización Bioquímica y Molecular del Sistema de dos Componentes TODS/TODT de Pseudomonas putida DOT-T1E* [Tesis Doctoral, Universidad de Granada]. Digibug. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/1838>
- Ruan, B., Wu, P., Chen, M., Lai, X., Chen, L., Yu, L., Gong, B., Kang, C., Dang, Z., Shi, Z., & Liu, Z. (2018). Immobilization of *Sphingomonas* sp. GY2B in polyvinyl alcohol-alginate-kaolin beads for efficient degradation of phenol against unfavorable environmental factors. *Ecotoxicol Environ Saf*, 162, 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.058>
- Salgado, R., Pineda G., Mesta, A. M., Díaz F., & Wang Hu, E. T. (2007). Degradación de n-alcanos por *Pseudomonas Aeruginosa* MGP1. *Ciencia y Tecnología*, 7(7). 123-132. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2986556>
- Sayed, K., Baloo, L., & Kumar, N. S. (2021). Bioremediation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) by Bioaugmentation and Biostimulation in Water with Floating Oil Spill Containment Booms as Bioreactor Basin. *Environmental Research and Public Health*. 18(5), 1-26. <http://doi.org/10.3390/ijerph18052226>
- Singleton, D. R., Lee, J., Dickey, A. N., Stroud, A., Scholl, E. H., Wright, F. A., & Aitken, M. D. (2018). Polyphasic characterization of four soil-derived phenanthrene-degrading *Acidovorax* strains and proposal of *Acidovorax carolinensis* sp. nov. *Syst Appl Microbiol*. 41(5) 460-472. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.06.001>
- Silva, C., Hayden, H., Sawbridge, T., Mele, P., Kruger, R., Rodrigues, M., Costa, G., Vidal, R., Sousa, M., Torres, A. P., Santiago, V., & Oliveira, V. (2012). Phylogenetic and functional diversity of metagenomic libraries of phenol degrading sludge from petroleum refinery wastewater treatment system. *AMB Express*, 2(1), 2-13. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-18>
- Schuler, L., Jouanneau, Y., Chadhain, S., Meyer, S., Pouli, M., Zylstra, G., Hols, P., & Agathos, S. (2009). Characterization of a ring-hydroxylating dioxygenase from phenanthrene-degrading *Sphingomonas* sp. strain LH128 able to oxidize benz[a]anthracene. *Appl Microbiol Biotechnol*. 83, 465-475. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1858-2>
- Story, S. P., Kline, E. L., Hughes, T. A., Riley, M. B., & Hayasaka, S. S. (2004). Degradation of aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis* strain EPA505. *Arch Environ Contam Toxicol*, 47(2), 168-176. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3069-2>
- Takeda, H., Shimodaira, J., Yukawa, K., Hara, N., Kasai, D., Miyauchi, K., & Fukuda, M. (2010). Dual two-component regulatory systems are involved in aromatic compound degradation in a polychlorinated-biphenyl degrader, *Rhodococcus jostii* RHA1. *J Bacteriol*, 192(18), 4741-4751. <https://doi.org/10.1128/JB.00429-10>



- Teramoto, M., Suzuki, M., Hatmanti, A. & Harayama, S. (2010). The potential of *Cycloclasticus* and *Altererythrobacter* strains for use in bioremediation of petroleum-aromatic-contaminated tropical marine environments. *J Biosci Bioeng*, 110(1), 48-52. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.12.008>
- Terrisse, F., Cravo-Laureau, C., Noel, C., Cagnon, C., Dumbrell, A. J., McGenity, T. J., & Duran, R. (2017). Variation of Oxygenation Conditions on a Hydrocarbonoclastic Microbial Community Reveals *Alcanivorax* and *Cycloclasticus* Ecotypes. *Front Microbiol*, 8, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01549>
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M., & de Carvalho, C. C. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22(2), 231-241. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>
- van Beilen, J. B., Marín, M. M., Smits, T. H., Röthlisberger, M., Franchini, A. G., Witholt, B., & Rojo, F. (2004). Characterization of two alkane hydroxylase genes from the marine hydrocarbonoclastic bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Environmental microbiology*, 6(3), 264-273. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00567.x>
- Vandera, E., & Koukkou, A. I. (2017). Bacterial Community Response to Hydrocarbon Contamination in Soils and Marine Sediments: A Critical Review of Case Studies. En C. Cravo-Laureau, C. Cagnon, B. Lauga, R. Duran (Eds) *Microbial Ecotoxicology* (pp. 185-226). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-61795-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61795-4_9)
- Viñas Canals, M. (2005). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica*. [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. TDX. <https://www.tdx.cat/handle/10803/2396;jsessionid=ACCA48A91A591A99376F8685B960F04B#page=1>
- Watkinson R. J., & Morgan P. (1991). Physiology of aliphatic hydrocarbon-degrading microorganisms. En C. Ratledge (eds) *Physiology of Biodegradative Microorganisms* (pp. 79-92). Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-3452-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-011-3452-1_1)
- Wong-Villarreal A., Santiago-Mendez E., Hernández-Núñez E., Yáñez-Ocampo G., Giacomán-Vallejos G., González-Sánchez A., Ramírez-González, S., Espinosa-Zaragoza, S. & López-Báez, O. (2017). Degradación de Fenantreno por bacterias del género *Burkholderia* y *Rhizobium* aisladas de nódulos de mimosas. *NOVA-Scientia*, 9(19), 291-305. <https://doi.org/10.21640/ns.v9i19.995>
- Xu, Y., Yu, M., & Shen, A. (2016). Complete Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl Degradator *Rhodococcus* sp. WB1. *American Society for Microbiology*, 4(5), 1-2. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00996-16>





- Yamazoe, A., Yagi, O., & Oyaizu, H. (2004). Biotransformation of fluorene, diphenyl ether, dibenzo-p-dioxin and carbazole by *Janibacter* sp. *Biotechnology Letters*, 26, 479-486. <https://doi.org/10.1023/B:BILE.0000019554.49484.40>
- Zampolli, J., Collina, E., Lasagni, M., & Di Gennaro, P. (2014). Biodegradation of variable-chain-length n-alkanes in *Rhodococcus opacus* R7 and the involvement of an alkane hydroxylase system in the metabolism. *AMB Express*, 4, 73(1), 2-9. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0073-4>
- Zanaroli, G., Di Toro, S., Todaro, D., Varese, G. C., Bertolotto, A., & Fava, F. (2010). Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a non acclimated, complex source of microorganisms. *Microb Cell Fact*, 9(10), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-9-10>
- Zhao, Q., Yue, S., Bilal, M., Hu, H., Wang, W., & Zhang, X. (2017). Comparative genomic analysis of 26 *Sphingomonas* and *Sphingobium* strains: Dissemination of bioremediation capabilities, biodegradation potential and horizontal gene transfer. *Sci Total Environ*, 609(1), 1238-1247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.249>
- Zhang, X., Yang, L., Zhang, H., Xing, W., Wang, Y., Bai, P., Zhang, L., Hayakawa, K., Toriba, A., Wei, Y., & Tang N (2021). Assessing Approaches of Human Inhalation Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Review. *International journal of Environmental research and Public Health*. 18(6), 3124. <http://doi.org/10.3390/ijerph18063124>
- Zhou, R., Huang C., Zhang, A., Bell, S. G., Zhou, W., & Wong, L. (2011). Crystallization and preliminary X-ray analysis of CYP153C1 from *Novosphingobium aromaticivorans* DSM12444. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 67(8), 964-967. <https://doi.org/10.1107/S174430911102464X>

